Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 14, No. 1, Apr. May. 2018, p. 39- 47

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 14، شماره 1، فروردین-اردیبهشت 1397، ص. 47-39

تهیه ایزوله پروتئین لوبیا عروس و تعیین برخی خصوصیات عملکردی آن

سروناز اوصیا[1]- زینب رفتنی امیری[2*]

تاریخ دریافت: 1395/05/03
تاریخ پذیرش: 1395/08/01

چکیده

ترکیبات شیمیایی آرد دانه لوبیا عروس (*Phaseolus Vulgaris var aroos beans*) که یکی از ارقام لوبیاست اندازه‌گیری شد. ایزوله پروتئین آن با استخراج قلیایی در pH=9/5 و ترسیب اسیدی در pH=4/5 بدست آمد. برخی خصوصیات عملکردی آن شامل ظرفیت امولسیون‌کنندگی و کف‌کنندگی در pH 4، 7، 8 و 10 و تاثیر قدرت یونی نمک کلرید سدیم در غلظت‌های 0، 0/5 و 1 مولار مورد بررسی قرار گرفت. ایزوله پروتئین لوبیا عروس دارای درصد خلوص 89/06 درصد و بازده تولید 9 درصد بود. ظرفیت امولسیون‌کنندگی و کف‌کنندگی ایزوله پروتئین لوبیا عروس در pH=7، به‌ترتیب 65 درصد و 42 درصد بود. مقدار این پارامترها با قرار گرفتن در ناحیه قلیایی و دور شدن از نقطه ایزوالکتریک افزایش یافت و بیشترین میزان در pH=10، به‌ترتیب 70/23 درصد و 77/33 درصد بدست آمد. در طی زمان 90 دقیقه، به‌تدریج از پایداری امولسیون و کف کاسته شد. با افزایش غلظت نمک کلرید سدیم، ظرفیت امولسیون‌کنندگی و کف‌کنندگی کاهش معناداری پیدا کرد.

واژه‌های کلیدی: ایزوله پروتئین، ظرفیت امولسیون‌کنندگی ، ظرفیت کف‌کنندگی، لوبیا عروس

مقدمه

حبوبات پروتئین بیشتری (18 تا 50 درصد) نسبت به غلات (10 تا 15 درصد) دارند (Vadivel & Janardhanan, 2001). پروتئین‌های گیاهی بر اساس مقدار پروتئین، به سه دسته آردها با 65- 50 درصد پروتئین، کنسانتره‌ها با 90- 65 درصد پروتئین و ایزوله ها با بیش از 90 درصد پروتئین طبقه‌بندی می‌شوند (Gueguen, 1998). کنسانتره پروتئین از آرد بدون چربی از طریق خارج‌سازی قندهای محلول، فیبر محلول و ترکیبات جزئی به‌وسیلهٔ محلولهای الکلی آبی یا اسیدی رقیق در4/8-4 =pH به‌دست می‌آید. ایزوله پروتئین در مقایسه با کنسانتره پروتئین تحت تأثیر مراحل تصفیه بیشتری قرار می‌گیرد تا پلی‌ساکاریدها، قندهای محلول و سایر ترکیبات جزئی آنها نیز استخراج شود (Alibhai *et al*., 2005).

علاوه بر خصوصیات تغذیه‌ای، پروتئین حبوبات به‌عنوان عامل عملگرا نقش مهمی در فرمولاسیون فرآورده‌های غذایی دارند. حلالیت، ظرفیت اتصال آب، ظرفیت جذب چربی، خاصیت امولسیفایری و تولید کف از جمله خصوصیات عملکردی آن‌ها است (Boye *et al*., 2010).

ظرفیت امولسیون‌کنندگی با افزودن پیوسته روغن به سوسپانسیون رقیق پروتئین اندازه‌گیری می‌شود (Liu, 2004) درحالی که پایداری امولسیون مربوط به مقاومت آن در برابر تغییرات ساختاری (از قبیل انعقاد، خامه‌ای شدن، لخته شدن و ترسیب) و همچنین تغییراتی است که با گذشت زمان روی می‌دهند (Liu *et al*., 2008).

کف پروتئینی متشکل از حباب گاز است که توسط فیلم مایع حاوی پروتئین‌های محلول با فعالیت سطحی، کپسوله شده است. پروتئین‌ها برای ایجاد کف بایستی در فاز مایع محلول بوده، در سطح مشترک هوا و آب تجمع یافته، جهت ایجاد لایه‌های پروتئین چسبنده در اطراف ذرات هوا باز شده و ویسکوزیته و قدرت مکانیکی کافی به‌منظور جلوگیری از تخریب و انعقاد داشته باشند (Fenema, 1996). پایداری سیستم توسط کاهش کشش بین سطح گاز- مایع و تشکیل لایه پروتئینی مقاوم در برابر پاره شدن و با کشش‌پذیری بالا در اطراف حباب‌ها و تغییر ویسکوزیته فاز مایع ایجاد می‌شود (Aremo *et al*., 2007).

Sanchez -Vioque و همکاران (1999) پروتئین نخود را استخراج و ترکیب شیمیایی، خواص عملکردی و ویژگی‌های پروتئین آن را بررسی کردند. آنها دو نوع ایزوله پروتئین (با و بدون استفاده از سولفیت سدیم) از دانه‌های نخود به روش استخراج قلیایی در پی رسوب دادن اسیدی در نقطه ایزوالکتریک 4/3 بدست آوردند.

---

1 و 2- به‌ترتیب دانشجوی ارشد و دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری.
(* - نویسنده مسئول: Email: zramiri@gmail.com)
DOI: 10.22067/ifstrj.v1395i0.57744

عامری شهرابی و همکاران(1390) خواص عملکـردی و حرارتـی کنسانتره و ایزوله پروتئین نخود و سویا را بررسی و با یکدیگر مقایسه نمودند. مقدار پروتئین کنسانتره و ایزوله پروتئین بدست آمـده از آرد چربی گرفته نخود را به‌ترتیب 80 درصد و 88/6 درصد و کنسانتره و ایزوله پروتئین سویا را به‌ترتیـب 83/1 درصـد و 90/2 درصـد اعـلام نمودند. از نظر جذب آب و چربی تفاوت معنی‌داری بین پروتئین سویا و نخود مشاهده نشد. میزان تشکیل ژل و کف تمام نمونه‌ها با افزایش غلظت پروتئین افزایش یافت. ولی قدرت تشکیل کف پروتئین سـویا به‌طور معنی‌داری بیش از پروتئین نخود بود.

Kaur و Singh (2005) بـا بررسـی حلالیـت ایزولـه پـروتئین نخودهای مختلف اظهار داشتند، با افزایش pH در محدوده اسیدی تا محدوده ایزوالکتریک حلالیت کاهش و بعد از آن حلالیت با بالا رفتن pH افزایش یافت. Kinsella (1981) در تحقیقی اظهار داشت قابلیت حل شدن نقش مهمی در خـواص امولسـیون‌کننـدگی پـروتئین ایفـا می‌کند به‌طوری‌که هرچه قابلیت حل شـدن پـروتئین افـزایش یابـد، میزان امولسیون‌کنندگی آن افزایش می‌یابد. همچنین حضور نمک‌هـا و pH خواص امولسیون‌کنندگی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. Zhang و همکاران (2006) خصوصیات تشکیل ژل ایزوله‌های پروتئین نخود را بررسی نمودند. نتایج نشان داد که ایزوله پروتئین نخود در pHهـای مختلف و در حضور نمک‌های کلسیم و سدیم رفتارهـای رئولـوژیکی متفاوتی دارد.

لوبیا (*Phaseolus Vulgaris*) از نظر سطح زیـر کشـت جهـانی مقام اول را در بین حبوبات داشته و در عین حال هفتمـین محصـول عمـده غـذایی جهـان اسـت. یکـی از ارقـام خـاص لوبیـا، لوبیـا عـروس(*Phaseolus Vulgaris var aroos beans*) اسـت. آل حسینی و همکاران(1390) به کشت این لوبیا در نقاط خاصی از کشور (بجنورد) و همچنین محتوای بالای پروتئینی و پخـت سـریع آن در مقایسه با سایر ارقام لوبیا اشاره کرده‌اند. هدف از انجام این پـژوهش تعیین ترکیب شیمیایی آرد و ایزوله پروتئین لوبیـا عـروس و ارزیـابی برخی از خواص عملکردی آن مانند ویژگی‌های امولسـیون‌کننـدگی، کف‌کنندگی و پایداری آن‌ها و هم‌چنین بررسـی تـاثیر pH و قـدرت یونی برخصوصیات فوق است.

مواد و روش‌ها

دانه لوبیا عروس و روغن تصفیه شده سـویا (اویـلا) از فروشـگاه ساری خریداری شد. پارافین و هگزان نرمال با درجه خلوص 95درصد از شرکت پارس شیمی و سـایر مـواد شـیمیایی و حـلال‌هـای مـورد استفاده با درجه خلوص تجزیه‌ای از شـرکت مـرک آلمـان خریـداری شدند.

تهیه آرد لوبیا عروس: ابتدا دانه لوبیـا عـروس توسـط آسـیاب صنعتی (توس شکن) آسیاب شد، سپس آرد حاصل بـرای یکنـواختی ابعاد از الک با مش 60 عبـور داده شـد و در کیسـه‌هـای پلاسـتیکی پلی‌اتیلنی مقاوم به نفوذ رطوبت و هوا بسـته‌بنـدی شـد و تـا انجـام آزمایشات در فریزر در دمای 18- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

تهیه ایزوله پروتئین لوبیا عروس: ایزوله پروتئین لوبیا عروس بر اساس روش کیهانی و همکاران(1392) با اندکی تغییرات تهیـه شـد. پودر حاصله در شرایط غیر قابل نفوذ به رطوبت و هوا در کیسه‌هـای پلاستیکی پلی‌اتیلنی در فریزر 18- درجه سانتی‌گراد تا زمان آزمایشات نگهداری شد.

بازده برحسـب وزن رسـوب بـه‌دسـت آمـده بـه روش رواقـی و همکاران(1391) از رابطه (1) محاسبه شد.

(1) 100× (وزن آرد مصرفی/وزن محصول تولیدی) = بازده تولید

تعیین ترکیب شیمیایی

با استفاده از روش‌های اسـتاندارد ملـی ایـران بـه شـماره 6950 رطوبت، خاکستر و پروتئین و شماره 2862 چربی نمونه‌ها اندازه‌گیری شدند (استانداردهای ملی ایران شماره 6950، 1379 و شـماره 2862، 1366). برای تعیین درصد پروتئین ایزوله آرد لوبیا عروس از دسـتگاه میکروکلدال اتوماتیک (اس-4، بهـر، آلمـان) اسـتفاده شـد و درصـد نیتروژن خوانده شد و از فاکتور 6/25 برای تبدیل نیتروژن به پروتئین استفاده شد. محاسبه میزان کربوهیدرات نیـز از طریـق کسـر درصـد ترکیبات از 100 انجام شد (Horwitz, 2002).

ظرفیت امولسیون‌کنندگی و پایداری امولسیون

محلول 1 درصد ایزوله پروتئین لوبیا عروس در pH=7 تهیه شد. سپس 10 میلی‌لیتر روغن مایع به 90 میلی‌لیتر محلول ایزوله فوق در حالی که نمونه توسط همزن مکانیکی در حال همزدن بود اضافه شد. بعد از 10 دقیقه اختلاط امولسیون روغن در آب حاصله توسط همـزن مکانیکی، با استفاده از اولتراتوراکس (تی 25، آی کی ای، آلمـان) بـا سرعت 11000 دور بـر دقیقـه بـه مـدت یـک دقیقـه همـوژن شـد (امولسیون اولیه) و بلافاصله بعد از آن، به مدت 5 دقیقه در 1100×g سانتریفوژ شد و ظرفیت امولسیون‌کنندگی از رابطـه (2) بدسـت آمـد (Papalamprou *et al*., 2009).

(2) 100× (ارتفاع کل محتویات در لوله سانتریفوژ/ ارتفـاع لایـه امولسیون در لوله سانتریفوژ)= ظرفیت امولسیونی

برای اندازه‌گیری درصد پایداری، امولسیون اولیـه، بـه مـدت 30 دقیقه در دمای 80 درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس بـه مـدت 5

دقیقه در 1100xg سانتریفوژ شد. پایداری امولسیون در زمان صفر، 45 و 90 دقیقه بعد از سانتریفوژ از رابطه (3) بدست آمد (Papalamprou *et al.*, 2009).

(3) 100× (حجم کل مخلوط حرارت دیده در لوله سانتریفوژ/ حجم لایه امولسیون در لوله سانتریفوژ)= پایداری امولسیون

ظرفیت کف‌کنندگی و پایداری کف

محلول 2 درصد ایزوله پروتئین لوبیا عروس در دمای محیط، به مدت 3 دقیقه توسط اولتراتوراکس با سرعت 19000 دور بر دقیقه مخلوط شد و درصد حجم کف تولید شده و پایداری آن در زمان صفر، 45 و 90 دقیقه بعد از سانتریفوژ از رابطه (4) محاسبه شد (Lin *et al.*, 1974).

(4) 100×(حجم کف قبل از مخلوط کردن/ اختلاف حجم بین بعد و قبل از مخلوط کردن)= فعالیت کف‌کنندگی

اثر pH و غلظت یونی محیط بر ظرفیت امولسیون‌کنندگی و کف‌کنندگی

ظرفیت امولسیون‌کنندگی و کف‌کنندگی نمونه‌ها مطابق روش مربوطه در pH 4، 8 و 10 و غلظت‌های نیم و یک مولار نمک کلرید سدیم اندازه‌گیری شد (اسدپور و همکاران، 1390).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در طرح کاملا تصادفی، آرد کامل و ایزوله پروتئین لوبیا عروس استخراج شد. درصد بازده و خلوص ایزوله پروتئین و هم‌چنین نتایج کلیه آزمون‌ها بر مبنای میانگین سه تکرار گزارش شدند. میانگین‌ها جهت بررسی معنی‌دار بودن با نرم‌افزار SPSS نسخه 16و بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال 5 درصد مقایسه شدند و به‌منظور ترسیم نمودارها نیز از نرم‌افزار اکسل 2007 استفاده شد.

نتایج و بحث

در جدول 1 آنالیز ترکیبات شیمیایی آرد کامل لوبیا عروس و ایزوله پروتئین آن نشان داده شده است. مقایسه یافته‌ها با نتایج خسروی و همکاران (1392) نشان می‌دهد که آرد کامل لوبیا عروس نسبت به سایر انواع حبوبات دارای درصد رطوبت و کربوهیدرات بالاتر، پروتئین کمتر، چربی و خاکستر مشابه است. هم‌چنین مقایسه نتایج ترکیب شیمیایی ایزوله پروتئین لوبیا عروس حاصله با نتایج پژوهش عامری شهرابی و همکاران (1390) نشان می‌دهد که این ایزوله از لحاظ درصد پروتئین، رطوبت و خاکستر مشابه ایزوله‌های نخود و سویا و از لحاظ درصد چربی مشابه ایزوله نخود و کمتر از ایزوله سویا بوده است.

جدول1- آنالیز ترکیب شیمیایی آرد کامل و ایزوله پروتئین لوبیا عروس

نمونه	پروتئین(٪)	رطوبت(٪)	چربی(٪)	خاکستر(٪)	کربوهیدرات(٪)
آرد کامل	20/43 ± 0/75	8/86 ± 0/059	3/75 ± 0/096	4/081 ± 0/14	62/86 ± 0/66
ایزوله پروتئین	89/06 ± 1/41	0/079 ± 0/001	0/88 ± 0/01	2/25 ± 0/107	7/72 ± 1/35

هریک از اعداد، میانگین سه تکرار ± انحراف از استاندارد است

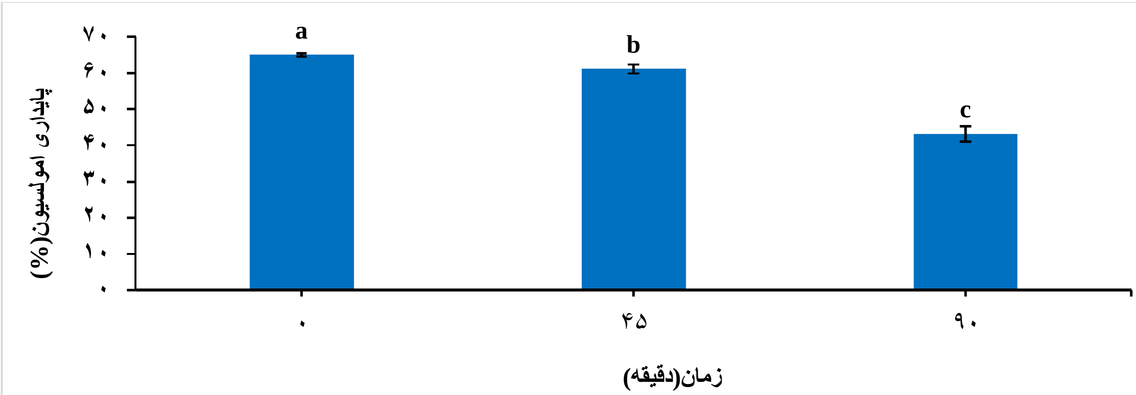
خلوص و بازده ایزوله پروتئین لوبیا عروس

خلوص ایزوله پروتئین لوبیا عروس تولیدی 89/06 درصد و بازده تولید 9 درصد بر اساس وزن ایزوله رسوبی به‌دست آمد. سایر محققان برای عدس خلوص 82 درصد و بازده 12 درصد و برای نخود خلوص 89 درصد و بازده 14/85 درصد اعلام نموده اند (Bora, 2002; بخشی مقدم و همکاران، 1392). همچنین ایزوله پروتئین لوبیا سفید به روش اسیدی در pH=4 با خلوص 95 درصد گزارش شد (Alli *et al.*, 1993).

ظرفیت امولسیون‌کنندگی و کف‌کنندگی و پایداری

با توجه به شکل‌های 1 و2 بیشترین پایداری امولسیون و پایداری کف در زمان صفر به‌ترتیب 65 درصد و 42 درصد بود و با گذشت زمان از میزان پایداری کف و پایداری امولسیون به‌طور معنی‌داری کاسته شد ($P<0/05$)، که با نتایج پژوهش خسروی و همکاران (1392) و اسدپور و همکاران (1390) مطابقت داشت. فاکتورهای متعددی مانند ویسکوزیته، شکل فضایی پروتئین، اندازه ذرات، کشش سطحی در پایداری امولسیون موثرند. علت کاهش پایداری امولسیون با گذشت زمان می‌تواند به دلیل تماس بیشتر قطرات و در نتیجه لخته شدن و به هم پیوستن قطرات روغن باشد (اسدپور و همکاران، 1390). ظرفیت امولسیون کنندگی ایزوله پروتئین نخود حاصل از روش قلیایی، توسط چندین محقق ارزیابی شده است. ظرفیت امولسیون کنندگی 63/7 درصد برای ایزوله پروتئین نخود که حاوی 84/4 درصد پروتئین بود، توسط Paredes-Lopez و همکاران (1991) گزارش شد. Boye و همکاران (2010) خصوصیات امولسیون‌کنندگی نخود، عدس و نخود فرنگی را با یکدیگر مقایسه کرده و گزارش کردند بالاترین فعالیت امولسیون‌کنندگی مربوط به پروتئین نخودهای کابلی و دسی بود. مقایسه ظرفیت امولسیون‌کنندگی در بین مطالعات مختلف به دلیل اثرات قابل

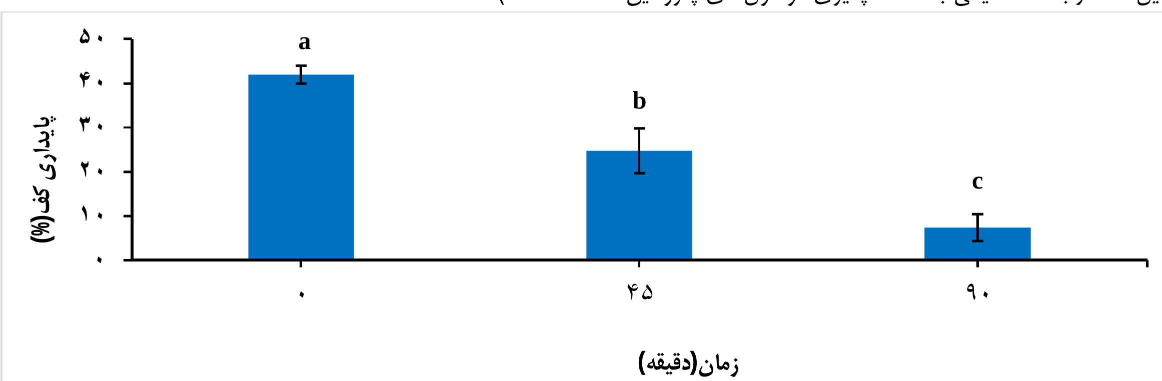
ملاحظــه تغییــرات جزئــی روش‌هــای آزمایشــگاهی بــر ظرفیــت امولسیون‌کنندگی دشوار است (Kaur & Singh, 2007).



شکل1- پایداری امولسیون ایزوله پروتئین لوبیا عروس

حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 0/05 است.

پروتئین‌های عمده حبوبات نیز بـه طـور طبیعـی کـروی شـکل هستند، از این رو توانایی تشـکیل کـف کمتـری دارنـد (Sathe & Salunkhe, 1981). طبـق نظـر Mwasaru و همکـاران (1999) توانایی تشکیل کف و پایـداری کـف بـه‌عنـوان یـک ویژگـی بـرای خصوصیت اختلاط‌پذیری کنسانتره‌ها و ایزوله‌هـای پـروتئین مطـرح است. به دلیل فعالیت سطحی پروتئین‌ها هنگـام زدن، کـف تشـکیل می‌شـود. از طرفـی Sathe و Salunkhe (1981) بیـان نمودنـد کـه تشکیل کف ارتباط مستقیمی با انعطاف‌پذیری مولکول‌های پـروتئین دارد که می‌تواند کشـش سـطحی را کـاهش دهـد. Kaur و Singh (2007) ظرفیت تولید کف ایزوله پـروتئین نخـود کـابلی را 41-44 درصد گزارش نمودند. در تحقیق عامری شهرابی و همکاران (1390) مقادیر کف تشکیل شده از ایزوله نخود 71/2 درصـد و ایزولـه سـویا 74/1 درصد گزارش شد. اختلاف در نتایج مطالعات گوناگون می‌تواند ناشی از اختلاف در خلوص پروتئین نمونه‌های مطالعه شده و همچنین شرایط استفاده شده جهت بررسی تولیـد کـف باشـد (Boye *et al*., 2010).



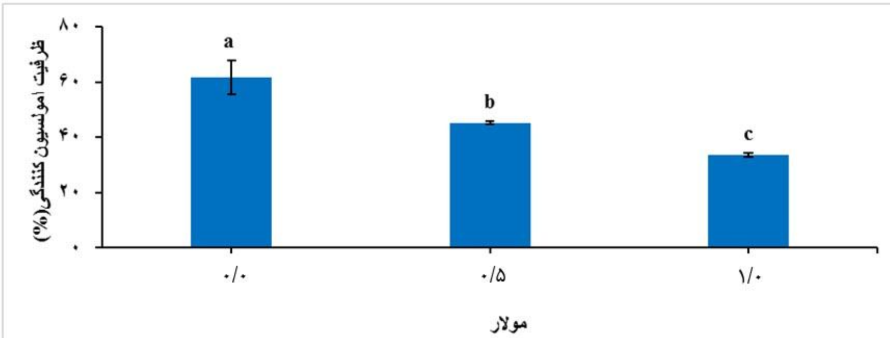
شکل2- پایداری کف ایزوله پروتئین لوبیا عروس

حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 0/05 است.

تاثیر قدرت یونی بر ظرفیت امولسیون‌کنندگی ایزوله پروتئین لوبیا عروس

با توجه به شکل 3، افزایش قدرت یونی محـیط در غلظـت‌هـای 0/5 و 1 مولار محلول کلرید سدیم تاثیر قابل توجه و معنـاداری بـر کاهش ظرفیت امولسیون‌کنندگی داشته است (P<0/05). در تحقیـق بصیری و همکاران (1390) نیز فعالیت امولسیون‌کنندگی آرد حـرارت ندیده سویا از 53/4 درصد در غلظت یونی 1 مولار تا 8/8 درصـد در قدرت یونی 2 مولار کاهش یافت. خاصیت امولسیفایری مولکول‌های پروتئین رابطه مستقیمی با قابلیت آنها در پایین آوردن کشش سطحی بین آب و روغن در امولسیون دارد و از سویی فعالیت سطحی پروتئین

موجب مهاجرت آسان پروتئین، باز شدن و نوآرائی مجدد آن در لایه بین سطحی آب و روغن مـی شـود (Ogungbenle, 2008). ظـاهرا نمک در غلظت‌های آزمون شده در ایـن پـژوهش، فعالیـت سـطحی پروتئین را کاهش داده و به‌نظر می‌رسد در غلظت‌های بـالاتر از 0/5 مولار نمـک، بـه علـت کـم شـدن حلالیـت پـروتئین و کـم شـدن پروتئین‌های در دسترس، ظرفیت امولسیون‌کنندگی پروتئین‌ها کاهش یافته است. به عبارتی کم شدن حلالیت پروتئین منجر به عدم قابلیت نفوذ پروتئین‌ها به سطح تماس آب و روغن و نهایتا کاهش ظرفیـت امولسیون‌کنندگی شده است.

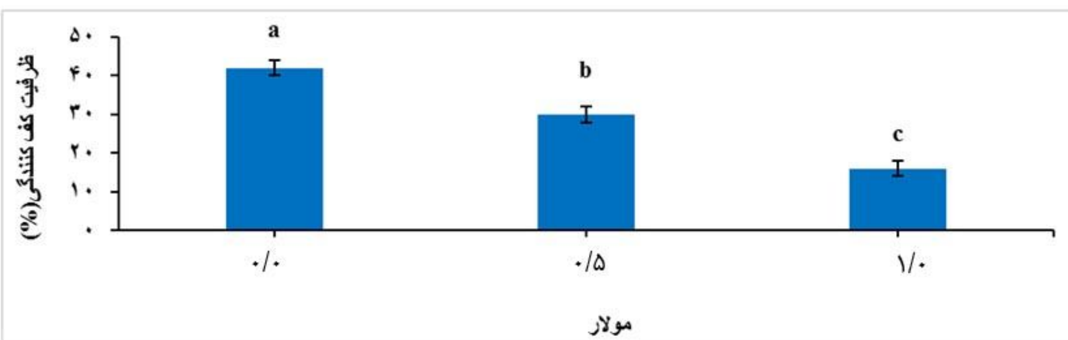


شکل 3- تاثیر کلرید سدیم بر ظرفیت امولسیون‌کنندگی ایزوله پروتئین لوبیا عروس در pH خنثی

حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 0/05 است.

تاثیر قدرت یونی بر ظرفیت کف‌کنندگی ایزوله پروتئین لوبیـا عروس

شکل 4 حاکی از اختلاف معنی‌دار کاهش ظرفیت کـف‌کننـدگی ایزوله پروتئین در غلظت 0/5 و 1 مولار محلول کلرید سدیم نسـبت به نمونه فاقد نمک است ($P<0/05$).



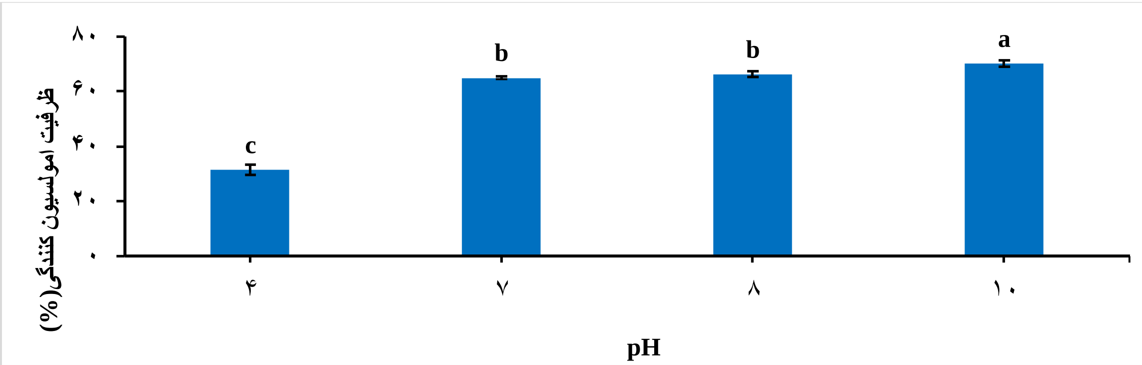
شکل 4- تاثیر کلرید سدیم بر ظرفیت کف‌کنندگی ایزوله پروتئین لوبیا عروس در pH خنثی

حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 0/05 است.

به‌نظر می‌رسد از آنجایی‌که 70 درصد پروتئین دانه‌های حبوبات را گلوبولین‌ها تشکیل می‌دهند و از سویی گلوبولین‌ها در آب محلـول و در محلول‌های نمکی غیرمحلول هسـتند، بـا افـزایش قـدرت یـونی محیط، از حلالیت کلی پروتئین‌ها کاسته شده و در نتیجه خصوصیات مرتبط با حلالیت از جمله کف‌کنندگی روند کاهشی یافته است. علت دیگر کاهش فعالیت کف‌کنندگی ممکن است به این دلیل باشد که در غلظت‌های بالاتر از 0/5 مولار نمک، مولکول‌های ایزوله پروتئین لوبیا و نمک برای آبگیری با هم رقابت می‌کنند. ایـن رقابـت‌هـا واکـنش پروتئین- پروتئین و عمدتا واکنش بین نـواحی آب‌گریـز روی سـطح مولکول‌های پروتئین مجاور هم را افزایش داده و منجر به رسوب‌دهی پروتئین‌ها می‌شود (Bond, 1989)، لذا از آنجا که پروتئین‌هـا بـرای ایجاد کف بایستی در محیط مایع محلول باشند تا بتواننـد در سـطح مشترک آب و گاز تجمع یابند، افزایش غلظت یونی محیط بـه علـت کاستن از حلالیت پروتئین‌ها منجر به کاهش ظرفیـت کـف‌کننـدگی شده است.

تاثیر pH بر ظرفیت امولسیون‌کنندگی ایزوله پروتئین لوبیا عروس

ظرفیت امولسیون‌کنندگی ایزوله پروتئین لوبیا عروس در pHهای مختلف اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند (P<0/05). مطابق شکل 5 بیشترین ظرفیت امولسیون‌کنندگی ایزوله پروتئین در pH=10 و کمترین در pH=4 مشاهده شد. در این تحقیق پروتئین در pH=4 که نزدیک به نقطه ایزوالکتریکی است که کیهانی و مشکانی (1392) آن را برای لوبیا عروس 4/5 تعیین کرده بودند، کمترین حلالیت را به میزان 7/87 درصد داشته که منجر به رسوب پروتئین‌ها و کاهش ظرفیت امولسیون‌کنندگی شده است. علت کاهش ظرفیت امولسیون‌کنندگی در محدوده نقطه ایزوالکتریک به کاهش حلالیت پروتئین‌ها درآن نسبت داده می‌شود (Nasri & Tinay, 2007; Lawal *et al.*, 2005). در حالی که فیضی و همکاران (1394) بیشترین ظرفیت امولسیون‌کنندگی ایزوله پروتئین شنبلیله را در محدوده کاملا اسیدی، pH=3 به میزان 39درصدگزارش کردند.



شکل 5- تاثیر pH بر ظرفیت امولسیون‌کنندگی ایزوله پروتئین لوبیا عروس

حروف متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 0/05 است.

اختلاف معناداری در ظرفیت امولسیون‌کنندگی ایزوله پروتئینی در pH=8 با ظرفیت امولسیون‌کنندگی نمونه کنترل (pH=7) وجود نداشت و به‌ترتیب برابر 66/3 درصد با قابلیت انحلال 70/96 درصد و 65 درصد با قابلیت انحلال 62/19 درصد بود. با دور شدن از نقطه ایزوالکتریک و افزایش pH به سمت محدوده قلیایی و در محدوده pH استخراج، ظرفیت امولسیون‌کنندگی به میزان 70/23 درصد رسید که ناشی از انحلال بیشتر پروتئین‌ها به میزان 77/1 درصد در pH =10 و تقویت ظرفیت امولسیون‌کنندگی است.اینطور به‌نظر می‌رسد که در pH بالاتر از نقطه ایزوالکتریک به‌دلیل منفی بودن بار پروتئین، ذرات پروتئین تحت تاثیر نیروی دافعه قرار گرفته و از یکدیگر دور شده و به‌صورت محلول باقی می‌مانند و کمتر رسوب می‌کنند و به همین علت خواص عملکردی بهتری دارند (Nasri و Tinay ,2007). نتایج این پژوهش با نتایج تحقیق Nasri و Tinay (2007) که بیشترین ظرفیت امولسیون‌کنندگی کنسانتره پروتئینی شنبلیله را در pH=12 و Adebowale و Lawal (2004) که بیشترین میزان ظرفیت امولسیون‌کنندگی آرد سه نوع حبوبات را درpH=10 گزارش نمودند، مطابقت داشت.

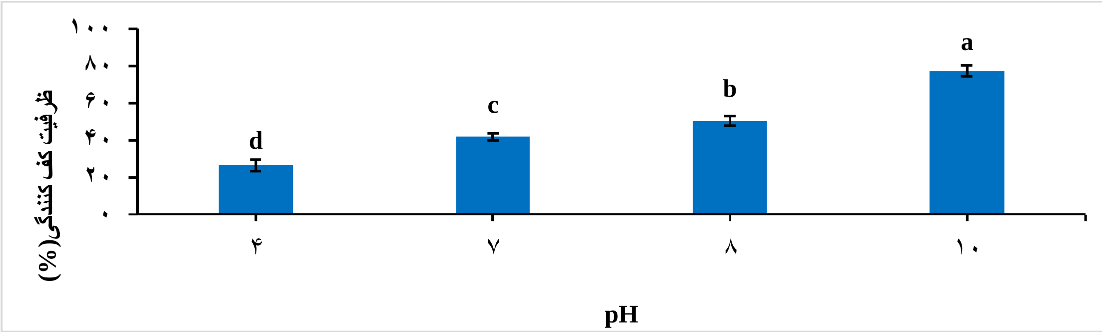
تاثیر pH بر ظرفیت کف‌کنندگی ایزوله پروتئین لوبیا عروس

مطابق شکل 6 بیشترین ظرفیت کف‌کنندگی در pH=10 و کمترین در pH=4 به‌دست آمد. با تغییر pH از ایزوالکتریک به سمت محدوده قلیایی ظرفیت کف‌کنندگی به مقدار قابل توجهی افزایش یافت. دلیل این موضوع احتمالا افزاش بار خالص پروتئین در pH قلیایی است که واکنش‌های آبگریزی را تضعیف نموده و با افزایش حلالیت و انعطاف‌پذیری پروتئین، پراکندگی را در فضای هوا- آب تسریع نموده و باعث به دام افتادن ذرات هوا و افزایش ظرفیت کف‌کنندگی شدند (Adebowale و Lawal ,2004). نتایج به دست آمده با نتایج Adebowale و Lawal (2004) و Nasri و Tinay (2007) مطابقت داشت.

نتیجه‌گیری

در بررسی نتایج آنالیز ترکیبات شیمیایی، درصد پروتئین موجود در آرد کامل لوبیا عروس کمتر از مقدار پروتئین گزارش شده برای سایر حبوبات بود، اما ایزوله پروتئین استخراج شده از لحاظ درصد خلوص پروتئین، مشابه سایر حبوبات آزمون شده در پژوهش‌های دیگر محققین ارزیابی شد. نتایج نشان داد که گذشت زمان و افزودن نمک کلرید سدیم تا غلظت 1 مولار، باعث کاهش ظرفیت‌های امولسیون‌کنندگی و کف‌کنندگی ایزوله پروتئین لوبیا عروس و پایداری آن‌ها شد. تغییر pH به سمت محدوده قلیایی موجب بهبود ظرفیت

امولسیون‌کنندگی و تشکیل کف شد، به‌طوری کـه نتـایج نهـایی بـا خصوصیات عملکردی حبوباتی همچون نخود و سویا مشابه بود. لـذا با توجه به خواص عملکردی مناسب ایزوله پـروتئین لوبیـا عـروس، می‌تواند به‌منظور استفاده در فرمولاسیون فرآورده های گوشتی، ویفر، بیسکویت، کراکر، سس، دسر و سوپ مورد تحقیق قرار گیرد.



شکل 6- تاثیر pH بر ظرفیت کف کنندگی ایزوله پروتئین لوبیا عروس

حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 0/05 است.

منابع

Adebowale, K.O. and Lawal, O.S. 2004. Comparative study of the functional properties of bambarra groundnut (*Voandzeia subterranean*), jack bean (*Canavalia ensiformis*) and mucuna bean (*Mucuna pruriens*) flours. *Food Research International*, 37(4): 355-365.

Alehosseini, A., Tavakkolipoor, H., Tolooii, A. and Keyhani, V. 2011. Evaluationof of effect of the moisture on physical properties of Aroos bean. *1th National Conference on Food Science and Technology*. Azad University of Ghochan.

Alibhai, Z., Mondor, M., Moresoli, Ch., Ippersiel, D., and Lamarche, F. 2005. Production of soy protein concentrates/isolates: traditional and membrane technologies. *Desalination*, 191(1-3): 351-358.

Alli, I., Gibbs, B.F., Okoniewska, M.K., Konishi, Y. and Dumas, F. 1993. Identification and characterization of phaseolin polypeptides in crystalline protein isolatedfrom white kidney beans (*Phaseolus vulgaris*). *Journal of agricultural and Food Chemistry*, 41:1830–1834.

Ameri shahrabi, A., Badii, F., Ehsani, M., Maftoonazad, N. and Sarmadizadeh, D. 2011. Functional and thermal properties of chickpea and soy-protein concentrates and isolates. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, 6 (3): 49-58.

Aremo, M. O., Olaofe, O. and Akintayo, E.T. 2007. Functional properties of some Nigerian varieties of legume seed flours and flour concentration effect on foaming and gelation properties. *Journal of Food Technology*, 5(2): 109-115.

Assadpour, A., Jafari, S.M., Sadeghi mahoonak, A. and Gorbani, M. 2011. Evaluation of emulsifying and foaming capacity of the legume flours and the influence of pH and ionic strength on these properties. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 7(1): 80-91.

Bakhshi moghadam, F., Milani, E., Mortazavi, S.A. and Meshkani, S.M. 2013. Effect of extraction methods on functional properties of chickpea protein isolated. *Journal of Food Science and Technology*, 10(1): 11-20.

Basiri, L. Sadeghi mahoonak, A. Alami, M. and Ghorbani, M. 2011. Effect of heat on functional properties of soy bean flour. *Journal of Food Science and Technology*, 9(3): 119-127.

Bond, J.S. 1989. Commercially Available Proteases, Appendix II. In: Proteolytic Enzymes, A Practical Approach. R.J. Beynon and J.S. Bond, eds., *IRL Press*, Oxford, U.K.

Bora, P. S. 2002. Functional properties of native and succinylated lentil (*Lens culinaris*) globulins. *Food Chemistry*, 77: 171–176.

Boye, J., Zare, F. and Pletch, A. 2010. Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *J. Food Research International*, 43: 414–431.

Chau, C. F. and Cheung, P. 1998. Functional properties of flours prepared from three Chinese indigenous legume seeds. *Food Chemistry*, 61(4): 429-433.

Feizi, S. Varidi, M. Zareh, F. Varidi. M.J. 2015. Effect of pH changes on functional properties of fenugreek protein isolate. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 11(5): 521-534.

Fenema, O.R. 1996. Food Chemistry, 3rd ed, Marcel Dekker Incorporation, USA.

Gueguen, J. 1998. Overview on functional properties of grain legume components. *Grain Legumes*, 20(2): 13-14.

Horwitz, W. 2002. Official Methods of Analysis,17th ed., *Association of Official Analytical Chemists*, Inc.,

Gaithersburg, USA.

Iran international standard. 1987. Method of determination for total fat content cereals and cereal products, No.2862.

Iran international standard. 2000. Cereal and cereal products- pea flour-specifications and test methods, No.6950.

Kaur, M. and Singh, N. 2005. Studies on functional, thermal and pasting properties of flours from different chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. *Journal food chemistry*, 91, 403- 411.

Kaur, M., and Singh, N. 2007. Characterization of protein isolates from different Indian chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. *Food Chemists*, 102: 366–37.

Keyhani, V. and Meshkani, S.M. 2013. Effect of physical properties of edible film that based on Beans Bride protein isolate. 2nd National Conference on Food Science and Technology of Ghochan.

Khosravi, Y. Keramat,J. Hosseini, E. Keshavarz hedayati, A. and Mahmoodi, A. 2013. Evaluation on functional properties of Iranian native variety of legumes flour. *Food Technology and Nutrition*, 10(3): 73-80.

Kinsella, J.E. 1981. Functional properties of soy proteins. *Journal of American Oil Society Chemists*, 56: 242-258.

Lawal, O. S., Adebowale, K.O., Ogunsanwo, B.M. and Bankole, S. 2005. On the functional properties of globulin and albumin protein fractions and flours of African locust bean (*Parkia biglobossa*). *Food Chemistry*, 92(4): 681-691.

Lin, M. J. Y., Humbert, E. S. and Sosulski, F. W. 1974. Certain functional properties of sunflower meal products. *Journal of Food Science*, 39: 368–370.

Liu, K. 2004. Soybean as functional foods and ingredients. American Oil Chemist' *Society press*, U.S.A.

Liu, C., Wang, H., Cui, Z., He, X., Wang, X., Zeng, X., and Ma, H. 2008. Optimization of extraction and isolation for 11S and 7S globulins of soybean seed storage protein. *Food Chemistry*, 102: 1310–1316.

Mwasaru, A.M., Muhammad, K., Bakar, J. and Cheman, Y.B. 1999. Effect of isolation technique and conditions on the extractability, physiochemical and functional properties of pigeon pea (*Cajanus cajan*) and cow pea (*Vigna unguiculata*) protein isolates.II. *Functional properties. Food Chem*, 67: 445-52.

Nasri, N. and Tinay, A.H. 2007. Functional properties of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) protein concentrate. *Food Chemistry*, 103, 582-589.

Ogungbenle, H. N. 2008. Effects of Salt Concentrations on the Functional Properties of Some Legume Flours. *Pakistan Journal of Nutrition*, 7(3): 453-458.

Papalamprou, E.M., Doxastakis, G,I. and Kiosseoglou, V. 2009 . Chickpea protein isolates obtained by wet extraction as emulsifying agent. *Journal of food science and Agriculture*, 90: 304–313.

Paredes-Lopez, O., Ordorica-Falomir, C., and Olivares- azquez, M. R. 1991. Chickpea protein isolates: physicochemical, functional and nutritional characterization. *Journal of Food Science*, 56(3): 726–729.

Ravaghi, M. Mazaheri tehrani, M. Asoodeh, A. 2012. Evaluation of changes in chemical and functional properties during production of soy protein concentrate from industrial soy flour. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 8(1): 16-25.

Sanchez-Vioque, R., Clemente, A., Vioque, J., Bautista, J. and Millan, F. 1999. Protein isolates from chickpea: chemical composition, functional properties and protein characterization. *Food Chem*., 64: 237-43.

Sathe, S.K. and Salunkhe, D.K. 1981. Functional properties of great northern bean proteins: emulsion, foaming, viscosity and gelation properties. *J Food Science*, 46: 71-5.

Vadivel, V. and Janardhanan, K. 2001. Nutritional and anti-nutritional attributes of the under-utilized legume, Cassia floribunda Cav. *Food Chemistry*, 73: 209-215.

Zhang, T., Jiang, B. and Wang, Z. 2006. Gelation properties of chickpea protein isolates. *Food Hydrocoll*, 2: 280-86.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 14, No. 1, Apr. May. 2018, p. 39- 47

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 14، شماره 1، فروردین-اردیبهشت 1397 ص. 47-39

Preparation and characterization of some functional properties of Aroos bean (*Phaseolus Vulgaris)* protein isolate

S. Osia[1], Z. Raftani Amiri[2*]

Received: 2016.07.27
Accepted: 2016.10.22

Introduction: The *Phaseolus Vulgaris* on a global scale of cultivation has been categorized in the first rank and considered as the seventh staple food in the world. Proteins are usually classified into 3 groups including flours with 50 to 65 percent protein, concentrate with 65 percent protein and isolates with over 90 percent protein. Protein concentrate is produced by defatted flour through removal of soluble sugars, soluble fiber and minor compounds by alcohol, water or diluted acid with pH around 4-4.8. Protein isolate is affected by further refining processes compared to protein concentrate. In addition to the importance of the nutritional properties, crop proteins have a key role as a functional agent in the formulation of food products. Solubility, water binding capacity, oil absorption capacity, emulsifying and foaming abilities are noticed as the main functional properties. One of the specific and unique varieties of beans is *Phaseolus Vulgaris var (aroos bean)*. The aim of this study was to determine the chemical composition of flour and bean protein isolate. In addition, some of the functional properties such as emulsification properties, foaming and stability as well as the effect of pH and ionic strength on above-mentioned characteristics were investigated.

Materials and Methods: The seed of *Phaseolus Vulgaris* and refined soybean oil (0ila) were purchased from Sari local supermarket. *Phaseolus Vulgaris* protein isolate was extracted and obtained powder was kept in impervious polyethylene plastic bags against moisture and air and placed at -18 ° C until analysis. The efficiency was calculated based on the sediment. Also, chemical composition and purity of the isolates were determined. Some functional properties, including emulsifying properties and foaming capacity at pH 4, 7, 8 and 10 were tested; and impact of the ionic strength of NaCl in concentrations of 0, 0.5 and 1 molar were examined. The results of all treatments were expressed based on the average of triplicate. Means were subjected to analysis of variances (one way-ANOVA) using (SPSS Statistics version 16) software program. Differences among the mean values of the various treatments were determined by Duncan test and the significance was defined at $p < 0.05$. The graphs were drawn using Excel software.

Results and Discussion: *Phaseolus Vulgaris* had 9% protein isolate efficiency and purity of 89.06%. The amount of protein in *Phaseolus Vulgaris* flour was less than the amount of protein that has been reported for other crops. While in terms of purity, protein isolate was similar to legumes in other studies. Foaming ability and emulsifying properties of *Phaseolus Vulgaris* protein isolate at 7 = pH were 42% and 65%, respectively. The value of this parameter using exposure to alkaline region and keeping far from the isoelectric point at pH = 10 were risen to the highest amount of 70.23% and 77.33%, respectively. During 90 minutes, stability of emulsions and foams were gradually decreased. With increasing of NaCl concentrations, foaming capacity and emulsifying properties were significantly reduced. Considering the efficient functional of *Phaseolus Vulgaris* protein isolate, further investigation required in order to be used in the formulation of meat products, cakes, cookies, crackers, sauces and soups.

Keywords: Protein, Emulsifying properties, Foaming capacity, *Phaseolus Vulgaris var (aroos bean)*

1 and 2. M. Sc. Student and Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Iran
(*Corresponding Author Email: zramiri@gmail.com)